

①9 RÉPUBLIQUE FRANÇAISE  
INSTITUT NATIONAL  
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE  
PARIS

①1 N° d'publication :  
(à n'utiliser que pour les  
commandes de reproduction)

**2 637 502**

②1 N° d'enregistrement national :

**88 13610**

⑤1 Int Cl<sup>8</sup> : A 61 L 27/00.

①2

## DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

A1

②2 Date de dépôt : 12 octobre 1988.

③0 Priorité :

⑦1 Demandeur(s) : Patrick DUROSELLE et Jean-Pierre BOITEUX — FR.

⑦2 Inventeur(s) : Patrick Duroselle ; Jean-Pierre Boiteux.

④3 Date de la mise à disposition du public de la demande : BOPI « Brevets » n° 15 du 13 avril 1990.

⑥0 Références à d'autres documents nationaux apparentés :

⑦3 Titulaire(s) :

⑦4 Mandataire(s) : Cabinet Harlé et Phélip.

⑤4 Matériau de xénogreffe osseuse et procédé d'obtention.

⑤7 Le matériau de xénogreffe osseuse rigide selon l'invention est à base de corail madréporaire (du type madrépore millipore de préférence), lavé de toute substance organique d'origine. Le matériau corallien renferme, dans son réseau cavitaire, en totalité ou partiellement, un accélérateur organique de l'ostéogénèse. Cet accélérateur organique consiste en un gel protéique à base de collagène de type I atélopeptidique et de fibronectine, éventuellement complété par des protéines GLA, des glycosaminoglycanes et/ou des microparticules d'hydroxyapatite de calcium.

FR 2 637 502 - A1

- 1 -

La présente invention a pour objet un matériau rigide de xénogreffe osseuse et plus particulièrement un produit destiné au comblement osseux, résorbable et ostéogénique ; elle concerne également le procédé pour  
5 obtenir ce matériau.

La réparation des pertes osseuses par greffe est une pratique chirurgicale dans nombre de spécialités. La difficulté liée à l'obtention des greffons et la quantité limitée de matériel autologue disponible en limitent  
10 cependant les indications.

Afin de pallier à ce problème, on a cherché depuis quelques années à mettre au point des procédés d'allogreffe (banque d'os) ou des implants artificiels destinés à des xénogreffes.

On connaît une grande variété d'implants artificiels à vocation ostéo-inductrice ou ostéo-compatible, que l'on peut regrouper dans différentes classes :

- les implants à base de protéines et glycoprotéines solubles, inductrices de l'ostéogénèse, basés principalement  
20 sur l'utilisation de collagène. On compte dans ce type d'implants sur leur pouvoir ostéo-inducteur ; ils ne comportent cependant aucun matériau agissant à titre de squelette de rigidification. Ce type d'implant est par exemple décrit dans la demande de brevet EP-206 801.

- les implants inorganiques à base de matériau de synthèse comme les hydroxyapatites (microporeuses ou non) ou le phosphate tricalcique. Ces matériaux sont choisis pour leur composition proche de la composition osseuse, pour leurs  
25 bonnes propriétés mécaniques et leur bonne tolérance par l'os. Ils sont cependant très peu solubles et ne sont  
30 remplacés que très progressivement par le matériau osseux au niveau de la lésion.

- les implants à base d'hydroxyapatite ou de phosphate tricalcique, imprégnés de protéines ostéogéniques et en  
35 particulier de collagène. La présence de substances inductrices de l'ostéogénèse permet d'augmenter la rapidité de colonisation vasculaire et de migration des cellules osseuses (ostéoblastes, ostéoclastes).

- 2 -

Ce type d'implants est par exemple décrit dans la demande de brevet EP-197 693 concernant un matériau destiné à la réparation des lésions osseuses. Le matériau de base : du phosphate de calcium tel que de l'hydroxyapatite ou du  
5 phosphate tricalcique, est associé à du collagène atélopeptidique de type fibrillaire. L'imprégnation complète du matériau minéral poreux par le collagène sous forme de gel est réalisée par aspiration.

L'étude histophysiologique du comportement "in  
10 vivo" des implants en général montre que dans la plupart des cas la partie inorganique de l'implant doit être lysée avant que l'ostéogénèse ne survienne. Ces matériaux servent principalement de structure à une colonisation vasculaire ramifiée et la migration des ostéoblastes ne survient que  
15 secondairement.

Or, comme on l'a déjà signalé auparavant, ces matériaux à base d'hydroxyapatite ou de phosphate tricalcique sont faiblement solubles et leur remplacement par la structure osseuse est très lent, ce qui limite  
20 beaucoup leur efficacité.

Depuis déjà quelques années, il est également connu d'utiliser du corail pour combler les lésions osseuses. Ce corail est soit transformé en micro-granules, soit utilisé sous forme de fragments directement implantés  
25 au niveau de la lésion ; il est principalement utilisé pour sa structure géométrique proche de la structure osseuse et pour sa bonne tolérance par l'os. Il présente cependant des qualités mécaniques peu satisfaisantes mais surtout dans certains cas, une trop grande résorbabilité dans l'organisme  
30 étant donné ses caractéristiques de solubilité importante. Ce caractère trop facilement résorbable du matériau coralien par l'anhydrase carbonique des ostéoclastes ne laisse pas le temps au matériau osseux de se reformer avant la dégradation de l'implant.

35 L'invention a pour objet un nouveau type d'implant rigide utilisable à titre de xénogreffe et permettant de pallier aux inconvénients des implants actuels.

Le but de l'invention est de proposer un matériau

- 3 -

de xénogreffe osseuse à vocation ostéoinductrice, ayant une structure proche de la structure osseuse et facilement biodégradable, de façon à augmenter la rapidité de formation du matériau osseux et permettre ainsi une réparation rapide des lésions.

Selon l'invention ce matériau de xénogreffe osseuse rigide est à base de corail et renferme, dans son réseau cavitaire, en totalité ou partiellement, un accélérateur organique de l'ostéogénèse.

Toujours selon l'invention, cet implant est composé par un substrat minéral en corail madréporaire, lavé de toute substance organique d'origine et dont la totalité de la structure ramifiée est traitée par des protéines favorisant l'attache, la migration et la croissance cellulaire.

Selon un mode de réalisation particulier, la totalité de la structure ramifiée corallienne est comblée par un gel protéique constitué de protéines d'adhésion cellulaire du type collagène de type I atélopeptidique, gélatine ou poly-D-lysine à raison de 1 à 50 % du poids total sec (corail + protéines), associé à de la fibronectine dans des proportions allant de 0,001 % à 10 % en poids de la masse protéique.

Selon une autre disposition de l'invention, la phase organique comporte des protéines solubles ostéogéniques, en particulier des GLA protéines comme des ostéogénines, des ostéocalcines, ou ostéonectines dans une quantité variant de 0,001 % à 2 % en poids de la masse organique.

Toujours selon l'invention, la phase organique est complétée par des glycosaminoglycanes du type acide hyaluronique ou sulfate de chondroïtine.

Selon une autre disposition de l'invention, la phase protéique est complétée par une dispersion de microparticules d'hydroxyapatite de calcium, de diamètre pouvant varier de 1 à 70  $\mu\text{m}$  et dont la quantité n'excède pas 5 % en poids de la masse total du produit.

L'invention a également pour objet le procédé de

- 4 -

préparation de ce matériau de xénogreffe osseuse.

Selon l'invention ce procédé consiste :

- à usiner les fragments de corail appropriés,
- à les laver de toute substance organique d'origine par
- 5 passage dans des bains d'hypochlorites et d'alcalis,
- à les imprégner totalement après stérilisation et séchage
- par la ou les phases protéiques stérilisées, à l'état de
- sol ; chaque phase de traitement du corail est réalisée sous
- pression négative et pour certaines dans un bain à
- 10 ultrasons.

Toujours selon l'invention, après imprégnation par la ou les phases organiques à l'état de sol, les blocs sont retirés de la solution et maintenus à température telle que le sol passe à l'état de gel.

15 En fin de traitement, les blocs coraliens peuvent être lyophilisés, ou dessiqués, stérilisés et emballés pour la commercialisation.

Ces blocs ont un volume variant de  $0,5 \text{ mm}^3$  à plusieurs  $\text{cm}^3$  et ont des formes adaptées au comblement de la lésion traitée. Ils peuvent également être combinés à des

20 prothèses chirurgicales métalliques ou non, sans ciment. Dans ce cas, le matériau coralien est inséré dans des logettes rétentives réalisées sur la prothèse ; ils sont destinés à induire la formation de structure osseuse à ce

25 niveau et améliorer ainsi l'implantation de la prothèse dans l'organisme.

Mais l'invention sera encore illustrée, sans être aucunement limitée par la description suivante de différents modes de réalisation, donnés à titre d'exemples nullement

30 limitatifs.

Le matériau de xénogreffe osseuse rigide selon l'invention est réalisé à partir d'un bloc de corail associé à un accélérateur organique de l'ostéogénèse.

La structure corallienne et en particulier le

35 corail madréporique du type "madrépore millipore" présente une structure minérale d'argonite, microporeuse, proche de la structure topographique de l'os. Sa structure à cellules ouv r t s communicantes lui confère une porosité ad'quate

- 5 -

pour servir de matrice et de bon support géométrique dans son utilisation à titre de produit de comblement osseux.

Le corail, récolté dans la nature, est débité en blocs primaires, lavé et incubé pendant plusieurs jours dans des alcalis et de l'hypochlorite de soude de façon à le débarrasser de toute substance organique. Cette incubation a lieu dans une cloche à vide permettant au solvant de pénétrer l'ensemble de la structure corallienne. L'usinage aux formes définitives, adaptées géométriquement au site d'implantation, est alors pratiqué, suivi d'un lavage par eau distillée et alcool en bac à ultrasons.

Les blocs de corail sont ensuite stérilisés par passage de plusieurs heures dans un four à 160-180°C, puis immergés dans de l'éthanol à 90 % puis à 100 % pour achever la déshydratation. Ils sont ensuite replacés sous vide, pour plusieurs heures, de façon à aboutir à une complète déshydratation et à un substrat minéral en corail "madrépore millipore" apte à subir le traitement organique.

La totalité de la structure ramifiée corallienne est traitée par des protéines qui sont les vecteurs des migrations cellulaires osseuses (ostéoclastes, ostéoblastes).

Les blocs coraliens pré-usinés sont imprégnés d'une matrice organique formée d'un gel à base de protéines d'adhésion cellulaire. Ces protéines consistent essentiellement en du collagène de type I atélopeptidique associé à de petites quantités de fibronectine et éventuellement à de la gélatine ou poly-D-lysine. Dans certains cas la gélatine et/ou la poly-D-lysine peut remplacer le collagène.

Ce gel matriciel de base peut éventuellement être associé à des substances réputées inductrices de l'ostéogénèse telles que des protéines ostéogéniques, en particulier des protéines GLA : par exemple des ostéogénines, ostéocalcines ou ostéonectines, ou des glycosaminoglycanes comme l'acide hyaluronique ou le sulfate de chondroïtine.

Ce gel glycoprotéique a pour effet, au niveau de

- 6 -

l'implant, de faciliter la colonisation vasculaire des cavités de la structure corallienne ainsi que la migration des cellules, en particulier ostéoblastiques, accélérant ainsi le processus d'ossification et la résorption de la phase minérale de l'implant.

La phase protéique, en cours de préparation, et à l'état de sol, peut être complétée par une suspension en quantité variable de microparticules d'hydroxyapatite ou de phosphate tricalcique (0,5 à 70  $\mu$ m), permettant, en association avec les cellules osseuses, d'initier des foyers de minéralisation et jouant un rôle d'agent de nucléation homogène.

La matrice protéique a la composition suivante :

- collagène (ou gélatine ou poly-D-lysine) ; au moins 86 % en poids
- fibronectine : 0,001 à 10 % en poids
- protéines GLA : 0 à 2 % en poids
- glycosaminoglycanes : 0 à 2 % en poids.

la somme des pourcentages de ces constituants étant égale à 100 %.

Cette composition est telle qu'une fois l'implant imprégné, le collagène représente 1 à 50 % du poids total sec (corail + protéines) ; dans le cas où on rajoute des microparticules d'hydroxyapatites à la solution protéique, ce dernier constituant, dans l'implant, représente au maximum 5 % du poids total sec.

Différents types de substrat protéique peuvent être réalisés à partir des constituants précédemment déterminés. Quelques exemples de réalisation sont indiqués plus loin en liaison avec des proportions variables en fonction du cas et de l'espèce.

L'imprégnation protéique est réalisée par immersion des blocs de corail dans une solution à température telle qu'elle se trouve à l'état de sol. Ce sol est maintenu en agitation constante afin de maintenir les éventuelles particules en suspension et l'imprégnation se fait pendant plusieurs heures sous vide, de façon à remplir l'ensemble du réseau cavitaire coralien. Cette solution

- 7 -

protéique a bien entendu été stérilisée au préalable, par exemple par passage sur filtre de 0,5 puis de 0,22  $\mu\text{m}$  ; les particules d'hydroxyapatite ou de phosphate tricalcique ont par exemple été stérilisées par chaleur sèche.

5 L'appareillage destiné à réaliser cette imprégnation protéique peut consister, tel que représenté sur le dessin annexé donné à titre indicatif, en une enceinte externe 1 à double paroi dans laquelle le vide relatif peut être pratiqué au moyen d'un système de pompe à  
10 vide 2. Cette enceinte 1 est obturée par un couvercle 3 comportant plusieurs passages pour tubulures 4 permettant aux différentes solutions de lavage et d'enrobage de pénétrer dans un bac interne 5 où sont placés les échantillons 6. Une tubulure de sortie 7 permet la vidange  
15 des solutions de traitement. Le bac interne 5 peut être contenu dans une cuve à ultrasons permettant l'éventuelle sonication des pièces 6 à enrober. Dans la double paroi de l'enceinte externe 1, on peut établir un courant de fluide caloporteur permettant de maintenir les échantillons 6 à une  
20 température adéquate à chaque phase de préparation.

L'imprégnation du bloc de corail peut être réalisée en un seul bain de substrat protéique ou en plusieurs bains de nature différente séparés chacun par un traitement de dessiccation ou de lyophilisation. Ce procédé  
25 de traitement par plusieurs bains successifs peut être intéressant pour réaliser une organisation moléculaire particulière de l'association protéique, en particulier pour la fibronectine.

L'imprégnation protéique étant jugée suffisante,  
30 les blocs sont retirés de la solution et maintenus à température telle que le sol passe à l'état de gel. Les blocs peuvent être alors lyophilisés, emballés et stérilisés, par exemple par rayons gamma.

L'implant selon l'invention consiste donc en un  
35 bloc pré-usiné de corail madréporique, en particulier de corail "madrépore millipore" adapté géométriquement au site d'implantation et destiné à combler le plus parfaitement possible et de façon rigide la perte de substance osseuse.



- 8 -

Ce matériau de carbonate de calcium, présentant un grande surface d'échange, grâce à sa porosité, est associé à des protéines favorisant l'ostéogénèse.

Une fois implanté au niveau de la lésion, le matériau coralien traité agit comme un squelette ou patron empêchant d'autres tissus de combler la perte osseuse. Dans un premier temps, le système cavitaire est colonisé par des axes vasculaires ; le réseau protéique assure rapidement la migration, l'attache et la croissance cellulaire. Dans un second temps, les ostéoclastes détruisent la structure minérale d'argonite par leur activité anhydrase carbonique et les ostéoblastes interviennent enfin pour synthétiser une matrice extra cellulaire de type ostéoïde et minéraliser cette matrice.

L'implant selon l'invention a une composition destinée à minimiser les effets antigéniques ou toxiques ; il peut être utilisé par exemple pour le comblement des alvéoles dentaires après extraction, pour le comblement des poches parodontales infra-osseuses, pour la réparation des lames alvéolaires voire même pour la surélévation des crêtes maxillaires lors d'édentation importante.

De nombreux types de formes peuvent être réalisés à partir de ce matériau, en fonction du type et de la localisation de l'intervention.

Il est également possible d'utiliser ce matériau en association avec des prothèses "sans ciment" dans le domaine orthopédique. Le matériau selon l'invention peut alors être inséré dans des logettes rétentives réalisées sur la prothèse ; ce matériau permet d'induire une formation très rapide de structure osseuse et ainsi améliorer l'implantation de la prothèse dans l'organisme.

Il est ainsi possible d'associer le matériau coralien bio-dopé, par exemple à une prothèse fémorale ostéobloquée ou un implant dentaire ; les logettes peuvent être réalisées, dans le cas d'une prothèse, au niveau du cotyle auto-taraudant et directement sur la prothèse fémorale qu'elles peuvent le cas échéant complètement traverser, réalisant un pont osseux au travers du matériau

- 9 -

métallique.

Exemples de réalisation de la matrice protéique

Exemple n° 1

- 5 . collagène de type I atélopeptidique : 1 à 50 % en poids du poids total sec (corail + protéines)
- . fibronectine : 0,001 à 10 % en poids de la masse organique

Exemple n° 2

- 10 . collagène de type I atélopeptidique : 1 à 50 % en poids du poids total sec
- . fibronectine : 0,001 à 10 % en poids de la masse organique
- . protéines ostéogéniques (protéines GLA : ostéogénine, ostéocalcine ou ostéonectine) : 0,001 à 2 % en poids de la masse organique

Exemple n° 3

- 15 . gélatine : 1 à 50 % en poids du poids total sec
- . fibronectine : 0,001 à 10 % en poids de la masse organique
- . glycosaminoglycane (acide hyaluronique ou sulfate de chondroïtine) : 0,001 à 2 % en poids de la masse organique

Exemple n° 4

- 20 . collagène de type I atélopeptidique : 1 à 50 % en poids du poids total sec
- . fibronectine : 0,001 à 10 % en poids de la masse organique
- . protéines GLA : 0,001 à 2 % en poids de la masse organique
- . microparticules d'hydroxyapatite de calcium (1 à 70  $\mu\text{m}$ ) :  
25 0,001 à 5 % en poids du poids total sec.

- 10 -

## - REVENDICATIONS -

1.- Matériau de xénogreffe osseuse rigide caractérisé en ce qu'il est composé d'une matrice corallienne renfermant, dans son réseau cavitaire, en totalité ou  
5 partiellement, un accélérateur organique de l'ostéogénèse.

2.- Matériau de xénogreffe osseuse rigide selon la revendication 1, caractérisé en ce qu'il est composé d'un substrat minéral en corail madréporaire, lavé de toute  
10 substance organique et dont la totalité de la structure ramifiée est traitée par des protéines favorisant la migration, l'attache et la croissance cellulaire.

3.- Matériau de xénogreffe osseuse rigide selon l'une quelconque des revendications 1 ou 2, caractérisé en ce que la totalité de la structure ramifiée corallienne est  
15 comblée par un gel protéique constitué de protéines d'adhésion cellulaire du type collagène de type I, gélatine ou poly-D-lysine, associé à de la fibronectine.

4.- Matériau de xénogreffe osseuse selon la revendication 3, caractérisé en ce que le gel protéique est  
20 constitué :  
- de collagène du type I atélopeptidique, gélatine ou poly-D-lysine : 1 à 50 % du poids total sec,  
- de fibronectine : 0,001 à 10 % en poids de la masse organique.

25 5.- Matériau de xénogreffe osseuse rigide selon la revendication 4, caractérisé en ce que la phase organique comporte des protéines solubles ostéogéniques, en particulier des GLA protéines dans une quantité variant de 0,001 à 2 % en poids de la masse organique.

30 6.- Matériau de xénogreffe osseuse rigide selon l'une quelconque des revendications 4 ou 5, caractérisé en ce que la phase organique est complétée par des glycosaminoglycanes du type acide hyaluronique ou sulfate de chondroïtine.

35 7.- Matériau de xénogreffe osseuse selon l'une quelconque des revendications 1 à 6, caractérisé en ce que la phase protéique est complétée par une dispersion de micro particules d'hydroxyapatite de calcium, de diamètre pouvant

- 11 -

varier de 1 à 70  $\mu\text{m}$  et dont la quantité n'excède pas 5 % en poids de la masse totale du produit.

5 8.- Matériau de xénogreffe osseuse selon l'une quelconque des revendications 1 à 7, caractérisé en ce que les blocs coraliens utilisés ont un volume variant de 0,5  $\text{mm}^3$  à plusieurs  $\text{cm}^3$  et ont des formes adaptées au comblement de la lésion traitée.

10 9.- Matériau de xénogreffe osseuse selon l'une quelconque des revendications 1 à 8, caractérisé en ce qu'il est inséré dans des logettes rétentives de prothèse "sans ciment", de façon à induire la formation de structure osseuse et améliorer l'implantation de la prothèse dans l'organisme.

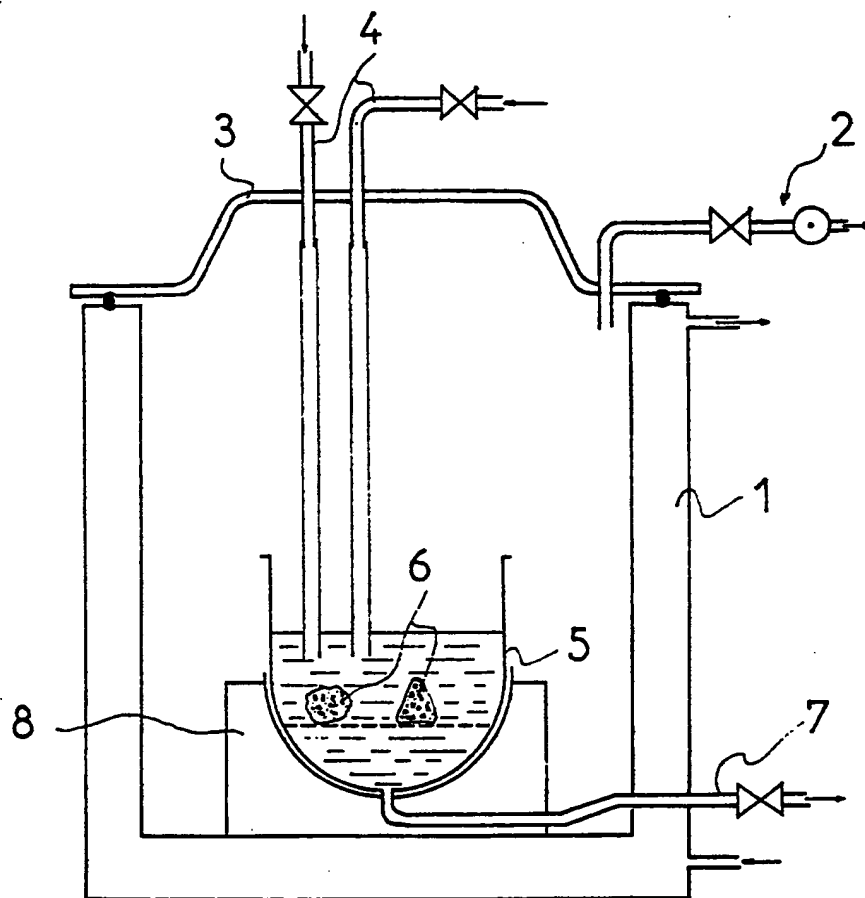
15 10.- Procédé de préparation d'un matériau de xénogreffe osseuse selon l'une quelconque des revendications 1 à 8, caractérisé en ce qu'il consiste :

- à usiner les fragments de corail appropriés,  
- à les laver de toute substance organique par passage dans des bains d'hypochlorite et d'alcalis,  
20 - à les imprégner totalement après stérilisation et séchage par la ou les phases protéiques stérilisées, à l'état de sol, chaque phase de traitement du corail étant réalisée sous pression négative et pour certaines dans un bain à ultrasons.

25 11.- Procédé de préparation d'un matériau de xénogreffe osseuse selon la revendication 10, caractérisé en ce que, après imprégnation par la ou les phases organiques à l'état de sol, les blocs sont retirés de la solution et maintenus à température telle que le sol passe à l'état de  
30 gel.

12.- Procédé de préparation d'un matériau de xénogreffe osseuse selon l'une quelconque des revendications 10 ou 11, caractérisé en ce que en fin de traitement, les blocs sont lyophilisés ou dessiqués, et stérilisés.

## PL. UNIQUE



(57) The rigid osseous xenografting material according to the invention is madreporal coral-based (preferably millipore madreporal type), in which all the original organic substance has been washed out.

The coral material contains, in its network of hollow spaces, totally or partially, an organic osteogenesis accelerator. This organic accelerator consists of a protein gel based on type I atelocollagen and of fibronectins, occasionally completed by GLA proteins, glycosaminoglycans and/or micro-particles of calcium hydroxyapatite.